

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1921-1922

N° 95

RÉACTION DE FIXATION DANS LA TUBERCULOSE

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Mention " MÉDECINE "

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 17 Février 1922

PAR

Nikola DJOUKNITCH

Né le 1^{er} septembre 1897, à Kraliévo (Serbie)

Examineurs de la Thèse :	{	MM. VERGER	professeur.	{	Président
		BÉGOIN	professeur.		Juges
		G. DUBREUIL	professeur.		
		LACOSTE	chargé des fonctions d'agrégé.		

Le candidat répondra aux diverses questions qui lui seront faites
sur l'Enseignement médical

BORDEAUX

IMPRIMERIE MODERNE — A. DESTOUT AINÉ & C^{ie}

139, Rue Sainte-Catherine et 8, Rue Paul-Bert

1922

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1921-1922

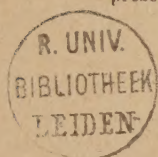
N° 95

RÉACTION DE FIXATION DANS LA TUBERCULOSE

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Mention " MÉDECINE "

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 17 Février 1922



PAR

Nikola DJOUKNITCH

Né le 1^{er} septembre 1897, à Kraliévo (Serbie)

Examineurs de la Thèse :	{	MM. VERGER	professeur. <i>Président</i>
		BÉGOVIN	professeur.
		G. DUBREUIL	professeur. <i>Juges</i>
		LACOSTE	chargé des fonctions d'agrégé.

Le candidat répondra aux diverses questions qui lui seront faites
sur l'Enseignement médical

BORDEAUX

IMPRIMERIE MODERNE — A. DESTOUT AINÉ & C^{ie}

139, Rue Sainte-Catherine et 8, Rue Paul-Bert

1922

Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux

M. SIGALAS Doyen

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. LANELONGUE, BADAL, JOLYET, PITRES, GUILLAUD

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique interne.....	{ ARNOZAN CASSAËT	Médecine expérimentale.....	FERRÉ
Clinique externe.....	{ CHAVANNAZ VILLAR	Clinique ophtalmologique.....	LAGRANGE
Pathologie et thérapeutique générales..	CRUCHET	Clinique chirurgicale infantile et Orthopédie	DENUCÉ
Clinique d'accouchements....	RIVIÈRE	Clinique gynécologique	BÉGOUIN
Anatomie pathologique	SABRAZES	Clinique médicale des maladies des enfants	MOUSSOUS
Anatomie.....	PICQUÉ	Chimie biologique.....	DENIGES
Anatomie générale et histologie.....	G. DUBREUIL	Physique pharmaceutique.....	SIGALAS
Physiologie.....	PACHON	Pathologie exotique...	LE DANTEC
Hygiène.....	AUCHÉ	Clinique des maladies cutanées et syphilitiques...	W. DUBREUIL
Médecine légale.....	VERGER	Clinique des maladies des voies urinaires...	POUSSON
Physique biologique et Clinique d'électricité médicale.....	BERGONIÉ	Clinique psychiatrique.	ABADIE
Chimie.....	CHELLE	Clin. d'oto-rhino-laryngologie.	MOURE
Botanique et matière médicale..	BEILLE	Toxicologie.....	BARTHE
Pharmacie.....	DUPOUY		M. PRINCETEAU
Zoologie et Parasitologie.	MANDOUL		

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

MM.		MM.	
Anatomie et embryologie.	N... et N...	Médecine générale.....	DUPERIÉ
Histologie.....	LACOSTE (chargé)		CREYX
Physiologie.....	DELAUNAY	Maladies mentales.....	MICHELEAU
Anatomie pathologique.	MURATET	Médecine légale.....	PERRENS
Parasitologie et Sciences natur...	R. SIGALAS (chargé)		LANDE
	N...	Chirurgie générale....	GUYOT
Physique biologique et médicale.	RÉCHOU		ROCHER
Chimie biologique et médicale..	N.		DUVERGEY
	PETGES		PAPIN
Médecine générale.....	J. CARLES	Obstétrique.....	PERY
	MAURIAC	Ophthalmologie.....	FAUGÈRE
	LEURET	Pharmacie.....	TEULIÈRES
			LABAT
			N.

CHARGÉS DE COURS :

Cours de Clinique dentaire	MM. CAVALIÉ
Cours complémentaire de Thérapeutique et Pharmacologie	J. CARLES
Cours complémentaire de Médecine opératoire	VENOT
Cours complémentaire d'Accouchements	PERY
Cours complémentaire d'Ophthalmologie	CABANNES
Cours complémentaire de Puériculture	ANDERODIAS
Cours complémentaire de Climatologie et Hydrologie médicale	SELLIER
Cours complémentaire de démonstrations et préparations pharmaceuti ^{que}	LABAT
Cours complémentaire de Chimie	RANGIER
Cours complémentaire de Vénérologie	PETGES
Cours complémentaire de Pathologie interne	MAURIAC
Cours complémentaire de Pathologie externe	GUIYOT
Cours complémentaire d'orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes	ROCHER
Cours complémentaire annexe de prothèse et rééducation profession ^{nelle}	GOURDON

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ ET DES HOPITAUX

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE DOCTEUR H. VERGER

PROFESSEUR DE MÉDECINE LÉGALE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE

DE BORDEAUX

MÉDECIN DES HOPITAUX

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

RÉACTION DE FIXATION DANS LA TUBERCULOSE

HISTORIQUE

L'introduction dans l'organisme de microbes, d'éléments figurés, de substances albuminoïdes, c'est-à-dire d'antigènes, amène la naissance d'anticorps (ambocepteurs d'Ehrlich, sensibilisatrices de J. Bordet), cette production d'anticorps étant soumise à des modalités très diverses suivant l'antigène et l'organisme animal qui le reçoit.

Ces anticorps peuvent être protecteurs, telles que les antitoxines de Behring (anticorps de poisons microbiens, de venins, de toxalbumines végétales) : ils peuvent aussi n'être que des témoins de certains processus infectieux ; et dans ce dernier cas, leur recherche peut servir à l'établissement du diagnostic de l'infection. Les recherches de Metchnikoff et ses élèves sur le mécanisme de résorption des éléments figurés et des substances albuminoïdes ont appris que la formation des anticorps était un phénomène général de l'immunité.

Büchner en 1890 avait appelé alexine la substance commune à tous les sérums qui donne naissance à une substance bactéricide. A la suite de ses recherches sur les bactériolysines et les hémolysines *in vitro*, J. Bordet avec Gengou établit la réaction dite de fixation, basée sur le principe suivant : lorsqu'on met en présence, *in vitro*, un antigène et l'anticorps correspondant, l'alexine (complément) d'un sérum frais se fixe sur l'antigène et la preuve de cette fixation est donnée par le fait suivant : si

on ajoute au mélange ci-dessus un sérum hémolysant les hématies de chèvre ou de mouton, dont on a détruit le complément par chauffage à 58°, et des globules rouges de chèvre ou de mouton, bien débarrassés de leur plasma et bien lavés, le complément fixé sur l'antigène dans le premier temps de l'expérience n'est plus libre pour réactiver le sérum hémolysant : celui-ci reste sans action sur les hématies, et il n'y a pas hémolyse. L'absence d'hémolyse dans le deuxième temps de l'expérience est le témoin de la déviation ou de la fixation du complément sur l'antigène plus anticorps, produite pendant le premier temps. Si on réalise ce premier temps en présence d'antigène et d'alexine, ou d'anticorps et d'alexine, l'alexine n'est pas fixée, elle est libre et peut réactiver le sérum hémolytique antimouton, et les hématies de mouton sont hémolysées. Cette réaction de fixation du complément est une méthode générale de diagnostic des maladies infectieuses. Widal et Le Sourd l'ont appliquée en 1901 au diagnostic de la fièvre typhoïde et de la tuberculose. La fortune de cette méthode a été considérable, surtout après son application par Wassermann et Brück au diagnostic de la syphilis en 1906. Aujourd'hui elle est une méthode courante d'identification d'antigènes ou d'anticorps.

En 1901, Widal et F. Le Sourd, se servant comme antigène du bacille tuberculeux homogène d'Arloing et Courmont, appliquent les premiers cette réaction au diagnostic de la tuberculose. Ils constatèrent que chez la plupart des tuberculeux elle était positive, mais qu'il existait des réactions non spécifiques positives, chez des non tuberculeux. Des résultats analogues à la même époque (6 juillet 1901) sont publiés par Camus et P. Pagniez, qui se servaient comme antigène de tuberculine précipitée. J. Bordet et Gengou constatèrent en 1903 la présence d'anticorps tuberculeux dans le sérum de cobayes inoculés avec des bacilles tuberculeux humains ou aviaires tués à 65° ou à 100°. Ces anticorps étaient la plupart du temps polyvalents, c'est-à-dire pouvaient être mis en évidence en présence de bacilles-antigènes humains, bovins, pisciaires (Gengou). L'existence de ces anticorps fut reconnue par Wassermann et Brück dans les

sérums des individus traités par la tuberculine, mais ne fut pas reconnue dans les sérums des individus non traités par la tuberculine. Ces anticorps pour ces auteurs étaient des antituberculeux : ils pouvaient n'être pas spécifiques, puisqu'on les trouvait chez des malades syphilitiques.

Morgenroth et Rabinovitch, en 1906, se servant de la même technique, obtinrent des résultats opposés et nièrent l'existence d'anticorps tuberculeux spécifiques. Ce fut aussi l'avis de Weil et Nakajawa (1906).

Lüdke assimila la tuberculine à une albumose, ce qu'a constaté Julius Citron (1907). Lüdke établit que la faculté de réagir aux injections de tuberculine persiste aussi longtemps que la réaction de fixation ne décèle pas la présence d'anticorps dans le sérum. Quand ceux-ci apparaissent dans le sérum, les injections de tuberculine arrivent à ne plus produire aucun effet. Bauer (1908) établit que chez les enfants l'organisme perdait la faculté de réagir aux injections sous-cutanées de tuberculine, au fur et à mesure que les anticorps apparaissaient dans le sérum. Au contraire, Wolff et Masham ne voient pas qu'il y ait un rapport entre les injections de tuberculine et la formation d'anticorps, et que la cuti-réaction n'est pas forcément positive chez les malades qui possèdent des anticorps. Ils trouvèrent la réaction de fixation 46 fois sur 109, avec la tuberculine comme antigène. Engel et Bauer (1908) établirent que les anticorps étaient spécifiques, qu'il n'existaient que chez les enfants tuberculeux et augmentaient avec la quantité injectée de tuberculine, pour disparaître quand on cessait les injections. De même les cobayes tuberculisés, traités par la tuberculine, présentaient des anticorps (Christian et Rosenblatt).

Cohn nia la valeur de la réaction de fixation dans le diagnostic de la tuberculose précoce et n'eut que 28 % de réactions positives chez les tuberculeux avérés.

Armand-Delille trouva la réaction positive 23 fois sur 30 sérums tuberculeux d'enfants (1909). En 1908, Calmette, Massol et Breton, se servant comme antigène de bacilles bovins ou de tuberculine bovine, trouvèrent la réaction positive dans 43 %

des cas au premier degré, 88 %. au deuxième degré, 97 %. au troisième degré. Slatinéanu montra que la réaction pouvait être plus intense dans les exsudats pleurétiques que dans le sérum (antigène = tuberculine alcoolique).

En 1909, Hanns, récapitulant 106 cas, donne la statistique suivante : 74 positives ; sur 33 tuberculeux traités par la tuberculine 23 fois ; sur 44 non tuberculeux, 9 réactions positives. Sur 29 cas personnels Hanns a eu 66 % de réactions positives, et sur 26 non tuberculeux 27 % de réactions positives. Il employait un mauvais antigène, une tuberculine alcoolique.

Marmorek, en 1909, prenant son sérum antituberculeux comme anticorps, essaya de rechercher une toxine-antigène dans le sérum des tuberculeux, cette toxine étant sécrétée seulement par le bacille de Koch en activité. Cette opinion, soutenue un moment par Bergeron, fut l'objet de la thèse de Bass. Bass (Khassia) appliqua cette méthode à la recherche de cet antigène dans les urines et le sérum. Bergeron reconnut plus tard qu'il suffisait d'augmenter très légèrement d'un cinquième la dose d'hémolysine pour rendre toutes les réactions négatives. Massol démontra que cette méthode reposait sur une grave faute de technique, l'insuffisante quantité de sérum hémolytique, qu'on doit toujours employer à la dose maxima. Aussi cette méthode est-elle allée rejoindre dans l'oubli la méthode du même auteur par le sérum antituberculeux curatif, qui était un mélange de sérum antituberculeux et antistreptococcique.

En 1909 Bezançon et de Serbonnes firent la réaction de fixation sur 150 sérums. Leur antigène était une émulsion de bacilles humains à 1 % et de la tuberculine brute. L'alexine employée était de l'alexine vieillie 10 jours à la glacière suivant la méthode de Nicolle et Pozewski, ces alexines vieilles gardant leur activité pendant les deux heures que dure la réaction, propriété que n'ont pas les alexines fraîches ; les globules de mouton employés à la dose de 1 goutte de globules frais, Bordet et Parker Gay (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1908) ayant montré l'insuffisance favorisante sur l'hémolyse d'une grande dilution des hématies et d'une grande quantité d'eau physiolo-

gique dans le deuxième temps de la réaction. Un tiers de tuberculeux eut une réaction positive ; souvent, au moment d'une rechute, les anticorps pouvaient disparaître rapidement. Les auteurs conclurent à la non valeur diagnostique et pronostique de la réaction, bien qu'elle leur parût être spécifique et ne pas se trouver chez les non tuberculeux. Ils conclurent aussi que les sensibilisatrices tuberculeuses, à l'inverse des sensibilisatrices typhiques, avaient une courbe oscillante et non continue.

Caulfield et Beathy trouvèrent, en 1911, de 33 à 62 % de réactions positives, et surtout chez les malades traités par la tuberculine.

Rosenkrantz (Soc. de Biol., 22 juillet 1911) employant un extrait bacillaire à l'eau obtint sur 100 sérums de nouveau-nés (sang du cordon) 14 réactions positives.

Karwacki et Otto, en 1911, recherchaient les anticorps tuberculeux dans les crachats (extrait obtenu à l'étuve à 50° pendant vingt-quatre heures), où ils les trouvaient 20 fois sur 20 crachats bacillifères.

On voit par cette énumération combien étaient contradictoires les résultats obtenus. Les antigènes étaient mauvais, leur pouvoir anticomplémentaire mal connu, la technique était mal réglée. La séro-fixation était menacée de tomber en désuétude. Mais les recherches d'un côté de A. Calmette, de l'autre de Besredka aboutirent à la préparation d'antigènes spécifiques et sensibles. La technique de la réaction profita beaucoup des bienfaits rendus à la sérologie générale par la méthode de Calmette et Massol, dite des doses croissantes d'alexine.

Depuis 1908, Calmette et Massol montrèrent d'abord qu'on pouvait créer des sérums riches en anticorps en injectant à des chevaux ou à des bovidés des doses répétées et espacées d'extraits bacillaires (1909), à la condition expresse que les injections soient faites suivant le rythme suivant : un cheval neuf reçoit 2 fois 20 centicubes d'extrait bacillaire (2 % d'extrait sec) à 12 jours d'intervalle ; 12 jours après les anticorps apparaissent ; mais ils disparaissent si on continue les injections à plus fortes doses. Par contre, le sérum est riche en anticorps le deuxième

jour après la dernière injection de faibles doses (2 centicubes). Calmette et Massol ont ensuite montré que la quantité d'alexine fixée était proportionnelle aux quantités d'antigène et d'anticorps, d'où la nécessité des doses croissantes d'alexine. L'excès d'anticorps, rare chez l'homme, peut empêcher la réaction ; l'excès d'antigène ne peut que la diminuer légèrement.

En 1910, Calmette et Massol ont montré que certains sérums d'animaux vaccinés, peuvent inhiber la réaction, quand on les introduit en petite quantité dans le mélange anticorps plus antigène, et avant d'avoir introduit l'alexine. Ces sérums inhibiteurs contiennent eux-mêmes des anticorps. Ceux qui n'ont que des anticorps fixent l'alexine en présence de faibles quantités d'antigènes, aux autres une grande quantité d'antigène est nécessaire.

Calmette et Massol étudièrent le pouvoir antigène des tuberculines, donnèrent le mode de préparation d'antigènes bacillaires spécifiques et sensibles.

En 1913 et 1914, Besredka donna le moyen de cultiver les bacilles tuberculeux sur un milieu favorable permettant d'avoir des cultures très bonnes pour la préparation d'antigènes. A l'heure actuelle la séro-réaction de fixation a été rendue pratique par la préparation des antigènes de Calmette et de Besredka. Nous allons maintenant en étudier la technique.

CHAPITRE PREMIER

Technique de la Réaction

La mise en pratique de la réaction de fixation nécessite la préparation de divers éléments nécessaires et leur titrage : globules de mouton, sérum hémolytique, sérum du malade, alexine, antigènes.

1. — Hématies de mouton

On recueille à l'abattoir par saignée en flacons stériles, contenant des perles de verre, le mélange des sangs de plusieurs moutons de préférence. On pourrait aussi saigner un ou deux moutons de temps à autre, mais cette technique est mauvaise : dans ces conditions les globules deviennent très fragiles. Le sang aussitôt est agité quelques minutes jusqu'à défibrination complète et formation d'un gros caillot, le sang surnageant restant liquide. Ce sang est ensuite décanté en tubes à centrifuger, dans la proportion de $1/4$, et $3/4$ d'eau physiologique à 8,5 pour 1000 sont ajoutés. Les hématies sont ainsi séparées par centrifugation ; on décante l'eau surnageante ; on recommence cette centrifugation et ce lavage trois fois. Après le troisième lavage on verse sur le culot globulaire une quantité d'eau physiologique égale au volume primitif qu'occupait le sang complet défibriné.

Cette émulsion est finalement diluée de moitié avec de l'eau physiologique et ainsi prête pour l'emploi. On en emploie 1 goutte.

Signalons l'importance de la neutralité de l'eau distillée

employée pour la préparation de l'eau physiologique. Il faut prêter toute son attention à la qualité des globules, à leur fraîcheur ; certains sont trop peu résistants, s'hémolysant très vite, d'autres sont très résistants.

Il conviendrait aussi pour des recherches rigoureuses de mesurer leur teneur en hémoglobine en les dissolvant et en comparant la teinte obtenue avec les teintes de l'échelle de A. Vernes. On emploie alors la quantité de globules dont l'hémolyse totale donne la teinte 8 de cette échelle.

Notons l'importance de rapporter le taux de la dilution des hématies au volume du sang total défibriné, et non au volume du culot globulaire : c'est à ce manque de précision que peuvent tenir les discussions au sujet du titrage de l'alexine. En général, 4 centimètre cube de dilution à 5 pour 100 environ (c'est-à-dire le volume ramené à 80 centimètres cubes du culot de centrifugation de 4 centimètres cubes de sang total) est une bonne concentration à utiliser, si on la préfère à celle que nous avons indiquée plus haut.

II. — Sérum hémolytique

Pour obtenir un bon sérum hémolytique, on inocule un lapin sous la peau avec 4 centimètre cube d'hématies lavées, avec 2 centimètres cubes cinq jours après, et avec la même quantité cinq jours après. Cinq jours après la dernière injection on saigne le lapin (carotide) ; on chauffe le sérum exsudé 30 minutes à 58° pour l'inactiver et on le répartit en ampoules. Une d'elles servira au titrage.

On dilue ce sérum au 1/100 dans l'eau physiologique et on verse dans des tubes 0,1-0,2-0,3 etc., jusqu'à 1 centimètre cube au plus. On complète les tubes au volume total de 2 centimètres cubes. On ajoute à chacun d'eux 1/10 de centimètre cube de sérum frais de cobaye et 1 goutte de l'émulsion globulaire, préparée comme ci-dessus. On complète tous les tubes à 3 centimètres cubes ; on agite en roulant le tube entre les doigts ; on laisse à l'étuve à 37° une heure ; on note le tube où commence

l'hémolyse. Soit par exemple le tube à 0 cc. 5 de sérum hémolytique, où elle commence, les tubes ultérieurs étant à hémolyse croissante et complète; ce sérum hémolyse à la dose de 0 cc. 005 en présence de 1/10 d'alexine fraîche.

Il faut employer après l'avoir ramené sous le volume de 0,4 une dose *maxima* de sérum hémolytique dix à vingt fois supérieure à la dose minima nécessaire (Calmette et Massol). Nous avons vu plus haut que Marmorek n'avait pas tenu compte de cette nécessité et que ses réactions étaient entachées d'erreurs (Massol). Certaines réactions peuvent être trouvées positives avec une à trois doses de sérum hémolytique et devenir négatives avec des doses plus élevées. Aussi la dose de deux à trois unités donnée par Rubinstein peut-elle être trop faible, et il vaut mieux employer une dose de sérum hémolytique au moins égale à dix doses minima hémolysantes: la moindre trace d'alexine laissée intacte peut manifester sa présence en dissolvant des hématies qu'une plus faible dose de sérum eût laissées intactes.

A. Ranque et Senez viennent d'insister sur l'importance de l'excès de sérum hémolytique, qu'ils emploient même au taux de 100 à 200 doses.

Ainsi, un sérum dont la dose minima est 0 cc. 005 (exemple choisi plus haut) sera employé pour chaque tube à la dose de 0 cc. 1 (non dilué), c'est-à-dire 20 doses minima.

Ce sérum pourra être conservé très longtemps (des mois).

III. — Sérum du malade

Le sang est recueilli aseptiquement par ponction veineuse; pour obtenir 5 à 8 centimètres cubes de sérum, il faut 15 à 20 centimètres cubes de sang. Le sérum est séparé après coagulation et décantation en 18 à 24 heures. On le recueille en pipettes stériles, qu'on scelle à la flamme et qu'on chauffe 30 minutes à 56° au thermostat pour détruire l'alexine. On peut ainsi le conserver pendant plusieurs semaines à la glacière.

Certains anticorps pouvant être thermolabiles (sérum d'ani-

maux en expérience), il vaudrait mieux dans ce cas laisser vieillir le sérum dix à vingt jours, l'alexine disparaîtra en presque totalité.

La dose de sérum à employer sera de 0 cc. 2 à 0 cc. 5.

IV. — Alexine et son titrage

On emploie comme alexine le sérum frais de cobaye, obtenu par centrifugation du sang défibriné, recueilli le jour même de l'expérience par ponction du cœur ou saignée carotidienne.

Les sérums de cobaye ayant en alexine une valeur très variable d'un jour à l'autre et d'un animal à l'autre, il convient de les titrer.

Massol et Grysez (1910) ont montré que l'alexine perd la moitié de son titre initial si elle est diluée au $1/20$ de son volume primitif pendant une heure, en somme pendant le temps nécessaire à la réaction.

Massol et Grysez ont aussi montré la valeur du vieillissement de l'alexine, qui baisse dès le deuxième jour, pour disparaître presque complètement le seizième jour, à moins qu'on ne la conserve à -10° .

Un moyen, indiqué par Massol et Nowaczinski, permet de ralentir l'effet du vieillissement : on ajoute au sérum frais $1/40$ de son volume d'eau salée de NaCl (36 grammes par litre) : au moment de l'usage, on dilue le sérum dans de l'eau distillée et ainsi le sérum récupère sa teneur normale en chlorure. On peut ainsi conserver une alexine dix jours.

De toute façon on déterminera avant chaque expérience la dose minima active d'alexine, en sachant qu'après une heure sous le volume total de 2 centimètres cubes, cette dose minima est deux fois plus petite que celle déterminée immédiatement (Calmette et Massol).

Pour titrer l'alexine, nous recommandons la technique de MM. Calmette et Massol : le sérum frais est dilué à $1/100$ dans l'eau physiologique, et mis dans une série de tubes sous les

volumes successifs de 0,1, 0,2, 0,3, etc., jusqu'à 1 centimètre cube : le volume est complété à 2 centimètres cubes avec de l'eau physiologique ; on ajoute partout 20 doses minima hémostatiques titrées comme nous l'avons indiqué, puis 1 goutte d'hématies lavées, émulsionnées à 5 pour 100, et on complète à 3 centimètres cubes de volume total. On lit après une heure à 37°. La dose d'alexine non fixée est indiquée par le premier tube de la série où débute l'hémolyse. Pour la réaction de fixation, on prend une dose double de cette dose minima active.

En pratique, on fera une dilution du sérum telle que 0,1 contienne cette dose définitive à employer. De cette façon les dilutions à employer varient de 1/6 à 1/10. Il faut éviter (Massol et Grysez) les dilutions à 1/20, comme nous l'avons indiqué plus haut, de telles dilutions perdant pendant le temps de la réaction une partie de leur titre initial.

Il faudrait toujours opérer cette dilution en milieu salé (Büchner 1890, Sachs 1907), et au moment même de l'emploi, et employer une alexine fraîche du jour. Néanmoins, dans la pratique courante, on peut employer, comme le conseille Besredka, une dilution à 1/15. De telles dilutions, 1/10 à 1/15, sont préférables à la dilution à 1/25 (dilution proposée par Rubinstein), cette dernière nécessitant ensuite, sous de trop grands volumes, des doses à partir de 0,2 par tube de réaction.

Nous conseillons vivement la technique de Calmette et Massol aux doses croissantes d'alexine diluée, qu'on peut augmenter si l'on veut jusqu'à la limite.

V. — Antigènes

Nous laisserons de côté les anciennes tuberculines employées au début de la réaction de fixation. Nous étudierons seulement les antigènes de Calmette et Massol, de Boquet et Nègre, de Besredka, et nous signalerons les autres antigènes proposés.

A) Antigènes de Calmette et Massol

Les antigènes doivent être spécifiques et sensibles; il est difficile de réunir ces deux qualités.

Les bacilles tuberculeux vivants sont les meilleurs producteurs d'anticorps *in vivo*, mais *in vitro* les meilleurs antigènes peuvent être des extraits de culture ou de macération de bacilles. Les bacilles sont surtout favorables à la recherche des anticorps dans le sérum des animaux hyperimmunisés.

La tuberculine brute (0 cc. 01 à 0 cc. 08) contient des substances nuisibles à la réaction, surtout si elle est précipitée par l'alcool. La tuberculine obtenue par simple évaporation de cultures n'a aucune valeur.

Il y a, en effet, deux sortes de sérums (Calmette et Massol): les uns, « sensibilisants », fixent les anticorps sur l'antigène des bacilles soluble dans l'eau et aussi sur l'antigène adhérent des bacilles épuisés par l'eau; les autres, « sensibilisants » et « inhibants », ne fixent leurs anticorps que sur l'antigène insoluble dans l'eau, et leur « inhibitrice » est décelable par les deux antigènes. La tuberculine fixe rarement les anticorps des sérums du premier groupe et jamais ceux du second.

MM. Calmette et Massol sur ces principes ont préparé deux antigènes: le premier est un extrait par macération au bain-marie pendant 48 heures à 65° de 5 grammes de bacilles, pesés à l'état sec, lavés et émulsionnés dans un litre d'eau et concentrés à 100 centimètres cubes: antigène B¹, qui convient aux sérums « sensibilisants ».

Le deuxième antigène, l'extrait bacillaire II, convient à tous les sérums: c'est une macération à 65° au bain-marie pendant 48 heures de 5 grammes de bacilles secs dans 100 centimètres cubes de peptone de Witte à 10 pour 100 (dans l'eau distillée) suivie de filtration. Pour l'emploi on dilue cet antigène à 1/1000 dans l'eau physiologique. Dans ce cas la peptone, inactive par elle-même, a enlevé aux bacilles un antigène insoluble dans l'eau pure. Cet antigène est très stable, mais presque impossible à

préparer actuellement, en raison du caractère introuvable de bonne peptone de Witte.

Mesure du pouvoir d'un antigène d'après Calmette et Massol

On emploie un sérum type, riche en anticorps, inactivé, et des doses croissantes d'antigène 0,1, 0,3, etc. : on ajoute dans tous les tubes la même dose d'alexine (10 doses minima); après deux heures et demie à 37° on ajoute le système hémolytique titré (en présence d'un excès d'alexine), et on lit une heure après à 37°. Si l'hémolyse s'est produite dans les tubes qui contiennent 0,1 à 0,2 d'antigène et ne s'est pas produite à 0,3 et au delà, on conclut que 0,3 d'antigène fixe 10 doses minima d'alexine en présence d'un système hémolytique en excès. Soit N les doses minima d'alexine et V le volume d'antigène. $\frac{N}{V}$ est la valeur de l'antigène $\frac{10 \text{ doses d'alexine}}{0,01} = 1.000$ doses; 1 centimètre cube d'antigène fixe 1.000 doses d'alexine, en présence d'un sérum connu et d'un système hémolytique constant.

Spécificité des antigènes

Les émulsions de bacilles ont une valeur très variable dans le temps: les extraits peptonés changent très peu à l'abri de la lumière.

Ils ne sont pas très spécifiques, puisque indifféremment on peut presque se servir d'antigènes bovins, humains, paratuberculeux (bacilles de Korn), de bacilles diphtériques (Massol). Les extraits d'organes tuberculeux (rate) [Bertarelli] sont antigéniques d'après leur valeur en bacilles, et sont nuls comme antigènes, s'ils sont peu riches en bacilles. Nous ne savons pas qu'elle est la nature chimique des substances fixatrices dans les antigènes.

B) Antigènes-extraits alcooliques de bacilles tuberculeux (Petroff, Boquet et Nègre)

La peptone de Witte étant difficile à se procurer au laboratoire de M. Calmette, Boquet et Nègre ont cherché à fabriquer d'autres antigènes. Petroff a préconisé des extraits alcooliques.

Kurt Meyer avait étudié l'action d'extraits benzéniques, éthérés, et avait constaté que la partie insoluble dans l'acétone possède le pouvoir fixateur le plus élevé (phosphatides).

Boquet et Nègre se sont inspirés de la méthode de Bordet et Ruehlens pour la préparation de l'extrait de cœur de veau antisyphilitique. Les bacilles tuberculeux stérilisés une heure à 120°, lavés, desséchés à l'étuve, sont mis en contact avec de l'acétone à raison de 1 centigramme de bacilles par centimètre cube d'acétone pendant 24 à 36 heures à la température ordinaire. On filtre sur papier, puis de nouveau desséchés on traite par l'alcool à 96° dans les mêmes proportions; après 48 heures, on filtre; l'extrait alcoolique dilué au 1/10 et employé à la dose de 1 centimètre cube présente un pouvoir anticomplémentaire pour une dose minima active d'alexine (définie plus haut). Ces extraits se conservent bien et sont clairs.

L'extrait acétonique seul est sans action.

L'extrait éthylique de bacilles humains-bovins, titré en présence du sérum de Vallée, a fixé 1.000 unités d'alexine (alexine au 1/10) se [reporter plus haut], les extraits de diphtériques ont fixé 800 à 1.000 unités alexiques, les extraits de bacilles acido-résistants (para-tuberculeux de Korn) 375 unités. D'après Petroff tous les bacilles acido-résistants (lèpre, smegma) donnent des extraits actifs.

Ces extraits éthyliques ne dévient pas l'alexine en présence des sérums normaux ou non tuberculeux (diphtériques par exemple), et en présence des sérums tuberculeux ils ont une activité très inégale et trop imparfaite.

Extrait méthylique bacillaire

L'extrait méthylique est bien supérieur et à conseiller. Petroff l'a largement utilisé à raison de 250 milligrammes de bacilles secs dans 50 centimètres cubes d'alcool méthylique pur pendant cinq à dix jours à 37°.

Boquet et Nègre font macérer pendant vingt-quatre heures dans l'acétone (1 centimètre cube par centigramme de bacilles de

cultures sur bouillon glycérimé de six semaines et secs); on dessèche, ensuite puis on fait macérer dans l'alcool méthylique absolu et pur (même proportion) pendant dix à douze jours à 37°, en agitant souvent. Après filtration, on obtient un liquide qui est employé comme antigène à la dose de 1/20 de centimètre cube, soit 1 centimètre cube de la dilution au 1/20 dans l'eau physiologique, ou 0 cc. 5 de la dilution au 1/10.

Cet antigène peut quelquefois donner un précipité qui se dissout à 45°-50°. S'il est louche, on le chauffe à 37° ou à 50°; puis on le dilue comme ci-dessus, jusqu'à teinte égale à l'opalescence d'une solution de lécithine à 1/10.000.

Les titrages faits ont indiqué que cet antigène fixe 3.000 unités alexiques. Le pouvoir fixateur de cet extrait est double de celui de l'extrait éthylique. Son activité paraît due, comme le prouve l'épreuve de réactivation du venin de cobra de Calmette et Massol, à des phosphatides (Boquet et Nègre).

Cet antigène méthylique peut quelquefois fixer l'alexine en présence d'anticorps syphilitiques.

Il est spécifique, très sensible, de conservation indéfinie à l'abri de la lumière, et facile à préparer.

C) Antigène alcoolique et glycérimé de Borrel (1920)

Borrel prépare son antigène en filtrant sur la tarlatane des bacilles humides: il les lave à l'eau physiologique, les broie quarante-huit heures avec l'appareil à perle, fait une suspension dans l'alcool absolu, fait évaporer l'alcool, puis les fait macérer dans l'eau glycérimée à 50 pour 100, décante longuement: la partie déposée au fond du vase est l'antigène.

Cet antigène a été employé sur 234 sérums, a donné des réactions positives dans 73 % de tuberculose pulmonaire, 80 % de lésions ramollies et 6 % chez les non tuberculeux; souvent près de la mort la réaction a été négative.

Avec cet antigène Borrel a vu que les anticorps apparaissent chez le cobaye vers le vingtième jour de l'infection, mais disparaissent près de la mort. La réaction a été positive chez 80 % de bovidés tuberculeux et 6 % de bovidés sains.

D) Emulsion de bacilles biliés

Les bacilles humides ou desséchés sont de mauvais antigènes. Seuls les bacilles de culture de pomme de terre biliée (Calmette et Guérin) pouvant très bien s'émulsionner, datant de trois semaines, pesés, sont stérilisés à 80° pendant une heure, employés à la dose de 0 cc. 5 (titre de 1 milligramme par centicube); ils ne sont pas hémolytiques et anticomplémentaires et peuvent fixer 18 doses d'alexine, les bacilles secs n'en fixant que 3.

E) Antigènes-corps bacillaires vivants ou morts

a) *L'antigène de Wilson*, indiqué par Hassow et von Webel contient des bacilles morts traités par l'alcool et l'éther; il a donné 70 % de réactions positives chez les tuberculeux, ce qui n'est pas assez à notre avis.

b) *L'antigène de Miller*, suspension de bacilles de souches diverses, desséchés et broyés, a été employé par W. Walkuis et C.-N. Boynton qui ont fait 6.500 réactions.

c) Petroff a employé des *filtrats de culture en bouillon-pomme de terre*, mais leur préfère les extraits méthyliques ou les extraits sodiques.

d) *Les bacilles vivants* fixent peu l'alexine (8 doses, Boquet et Nègre) et sont à rejeter et de même que les antigènes précédents (filtrats) sont anticomplémentaires.

F) Antigènes de Wadsworth et Maltauer

Ces auteurs dialysent les corps bacillaires, y ajoutent 1/20 de sérum équin, mettent 30 minutes à 37°, précipitent la globuline à 37° pendant 30 minutes par un passage de CO₂, purgé de HCl: le précipité est recueilli et agité avec de l'alcool. Cet extrait est concentré dans le vide. La dialyse a fait disparaître l'action anticomplémentaire de l'extrait aqueux, qui voit ensuite augmenter son pouvoir antigène par les concentrations et la précipitation des globulines.

G) Antigène de Besredka à l'œuf

En 1913, Besredka a indiqué un très bon procédé de culture des bacilles tuberculeux, qui permet d'obtenir un excellent antigène. En voici la technique modifiée en 1921 (*Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1921, tome XXXV, p. 291) : On répartit les jaunes de 20 œufs (350 centimètres cubes) dans un verre à pied et on ajoute 1 litre d'eau distillée (eau neutre); on clarifie par de la soude à 1 pour 100. On verse de la soude en quantité égale à la moitié de celle des jaunes par petites portions (175 centimètres cubes); puis on procède par petites additions de 1 à 1 cc. 5 en aspirant chaque fois du jaune dans une pipette; on suit ainsi la clarification lorsque le liquide apparaît ainsi transparent dans la pipette, et qu'il reste un peu opaque en couche mince (verre à pied). En général, il faut 10 centimètres cubes de soude en plus de 175 centimètres cubes (quelquefois cette quantité totale est trop grande). Avec de l'eau distillée on complète jusqu'à obtenir 7 litres de liquide $\frac{\text{volume de jaunes}}{\text{volume}} = 1/20$. On répartit en boîtes de Roux (50 à 150 centimètres cubes par boîte), on stérilise à 110° pendant vingt minutes.

Dans ce milieu, sans ajouter autre chose, le bacille tuberculeux pousse en profondeur dès le deuxième jour. Au quatrième jour, la culture peut servir d'antigène. Au quinzième, le fond de la boîte de Roux présente un voile de bacilles, qui s'accroît deux mois environ. Ce milieu permet aussi de préparer de la tuberculine. Cet antigène, bacilles de quatre jours, est un antigène complet; injecté à l'animal, il donne des anticorps spécifiques (Goldenberg), tandis que les bacilles de bouillon glycérimé de six semaines ne sont pas antigènes, ne donnent pas d'anticorps, ne fixent pas l'alexine (Goldenberg).

S. Urbain et B. Fried ont montré que l'antigène à l'œuf ne fixe pas l'alexine en présence de sérums non tuberculeux, sauf en présence du sérum diphtérique (fixation de 500 unités); qu'il fixe 5000 unités alexiques en présence d'un sérum antituberculeux. Quelquefois le sérum antituberculeux fixe l'alexine en

présence de subtilis ou de diphtérique (3 fois); seuls les sérums de diphtériques peuvent, quand les malades ont reçu quelques jours avant du sérum antidiphtérique, fixer l'alexine en présence de cet antigène.

La conservation de cet antigène à l'abri de la lumière et au frais paraît indéfinie.

CHAPITRE II

Description de la réaction de fixation

1. — Méthodes avec le sérum du malade inactivé par chauffage

On emploiera toujours dans ce cas la technique de Calmette et Massol aux doses croissantes d'alexines.

Nous ne parlerons pas de l'emploi de l'antigène à la peptone de Witte B² actuellement non employé (il s'employait à la dose de 1 centimètre cube par tube).

A. Méthode de Calmette et Massol avec l'antigène méthylique de Boquet et Nègre

Dans un premier temps on titre l'alexine fraîche du jour comme nous l'avons indiqué. On emploie comme première dose dans la réaction la dose minima active trouvée par le titrage en diluant l'alexine de telle façon que 0,1 de cette dilution (1/6 à 1/10 en général) représente cette dose active minima. Rappelons que cette dose active est le double de la dose minima qui permet l'hémolyse du complexe hématies plus 20 doses de sérum hémolytique inactivé.

Les réactifs sont répartis de la façon suivante : d'abord le sérum à étudier à la dose uniforme de 0 cc. 3 dans 5 tubes, puis 0 cc. 3 d'antigène méthylique Boquet-Nègre au dixième, ensuite des doses croissantes d'alexine titrée de 0,1 à 0,5, on complète à 2 cc. 5 avec de l'eau physiologique. Après une heure ou mieux

deux heures (Massol) à 37°, en ajoute le système hémolytique : 20 doses de sensibilisatrice antimouton plus 1 goutte de globules de mouton lavés, préparés comme nous l'avons indiqué. On replace à l'étuve 45 minutes et on lit les résultats après centrifugation.

On fait en même temps des tubes témoins pour mesurer les pouvoirs anticomplémentaires de l'antigène et du sérum seul ; pour l'antigène trois tubes témoins, sans le sérum, avec 0,1 à 0,3 d'alexine ; pour le sérum trois tubes avec 0,1 à 0,3 d'alexine.

La réaction est positive, si dans la première série des tubes (tubes de la réaction) l'alexine est déviée par le mélange antigène plus sérum à étudier dans une plus forte proportion que par l'antigène ou par le sérum séparément (deux séries de tubes témoins).

On peut mesurer cette fixation en divisant le nombre N doses d'alexine fixées, par le volume du sérum V ; $\frac{N}{V}$ représentant les doses d'alexine déviées par 1 centimètre cube de sérum. L'unité d'anticorps de Calmette et de Massol est celle représentée par la quantité d'anticorps capable de dévier une dose minima d'alexine.

Pratiquement on pourra noter la réaction positive + + + + + si 5 doses d'alexine ont été fixées (hémolyse nulle dans les cinq tubes) et marquer le degré de la positivité par un nombre de croix égal à celui des tubes où il n'y a pas d'hémolyse.

+ + + + + = hémolyse nulle dans les cinq tubes.

+ + + + = hémolyse nulle dans les tubes de 0,1 à 0,4 d'alexine.

+ + + = hémolyse nulle dans les tubes de 0,1 à 0,3 d'alexine (partielle dans tube à 0,4).

+ + = hémolyse nulle dans les tubes de 0,1 à 0,2 (partielle dans tubes à 0,3 et 0,4).

+ = hémolyse partielle dans les tubes de 0,2 à 0,4 et nulle dans le tube à 0,1.

Réaction négative, hémolyse totale dans tous les tubes ou seulement partielle dans le tube à 0,1 d'alexine et nulle dans les quatre autres.

La série des tubes témoins avec l'antigène indiquera si seul l'antigène dévie l'alexine du jour, et la série des tubes témoins avec le sérum sans antigène indiquera si par hasard le sérum à

étudier était anticomplémentaire, ce qui arrive très rarement si on emploie des sérums de vingt-quatre heures :

Cette technique est la seule à employer et à préférer à seule aux doses croissantes d'antigène qu'on tend à abandonner pour le diagnostic de la syphilis.

Nous devons faire remarquer que la réaction de fixation de la tuberculose a été faite par tous les auteurs par la technique générale de Calmette et Massol, ce qui permet d'en comparer les résultats. Il serait souhaitable que cette technique soit appliquée par tous à la réaction de Wassermann.

B) Méthode de Calmette et Massol avec l'antigène de Besredka

D'après Besredka et ses élèves, la réaction se fait par la méthode des doses croissantes d'alexine dans sept tubes : la dose de sérum à étudier est de 0 cc. 2 : celle d'antigène est de 0 cc. 3. On ajoute ensuite de l'alexine en croissant : 0,1 — 0,15 — 0,2 — 0,25 — 0,3 — 0,35 — 0,4. On fait sept tubes témoins avec 0,2 de sérum et mêmes doses croissantes d'alexine sans antigène. Chaque tube est bien agité individuellement. On porte à 37° une heure, puis une heure à la température du laboratoire.

Pendant ce temps on procède à l'essai rigoureux du système hémolytique ; les globules sont sensibilisés de façon que l'hémolyse ne commence qu'à partir du tube renfermant 0 cc. 45 d'alexine. Après l'addition des globules sensibilisés on porte les tubes à 37° pendant une demi-heure ; on fait une lecture au sortir de l'étuve et une seconde une demi-heure après à la température du laboratoire.

Ces renseignements sont extraits de la notice que joint M. Besredka à l'envoi de ses ampoules d'antigène.

II. — Méthode avec le sérum frais, non chauffé : antigène de Besredka

Il n'a pas été publié de travaux sur cette méthode appliquée à la recherche de la réaction de fixation (technique de Hecht) avec les antigènes de Calmette, et de Boquet et Nègre.

Rogers signale que la technique au sérum chauffé vaut mieux que la technique de Hecht. Avec l'antigène de Besredka, Goldenberg, Mozer et Fried, Lisbonne et Pellier, Charles Massias ont obtenu des résultats égaux avec cette méthode simplifiée à ceux de la méthode au sérum chauffé.

*Technique de Goldenberg et Fried; de Charles Massias,
Lisbonne et Pellier*

Dans trois tubes on répartit 0,4 de sérum à étudier, successivement 0,1 — 0,2 — 0,3 d'antigène de Besredka, on complète pour un volume total de 0,5; après une heure, au moins, d'étuve (Charles Massias préfère une heure et demie à deux heures), on ajoute les globules de mouton en quantité variable suivant le pouvoir hémolytique du sérum (0,1 à 0,3 de globules à 5 pour 100) Charles Massias emploie de préférence des émulsions de globules plus concentrées (1/10 à 1/5 à la dose de 0,1), évitant ainsi une trop grande quantité d'eau physiologique, celle-ci favorisant trop l'hémolyse, comme l'ont montré Bordet, Parker-Gay. La lecture est faite après 30 minutes à 37° et contrôlée une demi-heure et six heures après un séjour à la température du laboratoire (Charles Massias).

III. — Liquide céphalo-rachidien

Hanns, en 1909, avait prétendu son examen inutile, mais il employait une tuberculine comme antigène.

Le premier, Charles Massias a apporté, en juillet 1921 (*C. R. Soc. de Biol.*, 5 juillet 1911), le résultat de réactions à l'antigène de Besredka dans le liquide céphalo-rachidien.

Il employait la technique suivante: à 0 cc. 8 de liquide céphalo-rachidien il ajoutait dans trois tubes 0,1 d'un sérum humain alexique et hémolytique, titré, et 0,1 — 0,2 — 0,3 d'antigène. Après une heure et demie de séjour à l'étuve, il ajoute la quantité de globules (0,1 à 1/3 ou à 1/10) que peut hémolyser en 30 minutes le sérum hémolytique; la lecture est faite comme s'il s'agissait d'une épreuve sur le sérum, c'est-à-dire au sortir de l'étuve (30 minutes à 37°) et six heures après.

CHAPITRE III

Les anticorps tuberculeux

I. — Production de sérums riches en anticorps

Les sérums humains ou animaux d'individus infectés de tuberculose sont plus ou moins riches en anticorps.

Le cheval, l'âne, le bœuf et le lapin sont, comme l'a montré Calmette, les animaux qui permettent d'obtenir les sérums les plus riches en anticorps.

Calmette et Massol ont injecté à un cheval neuf des extraits bacillaires (20 centimètres cubes de contenance à 2/1000 d'extrait sec) : le sérum de cet animal contient des anticorps dès le douzième jour après la deuxième injection. Si, à douze jours d'intervalle, on injecte ensuite des doses variant de 40 à 100 centimètres cubes, les anticorps disparaissent et il ne s'en forme plus.

Au contraire, si on injecte 2 centimètres cubes d'extraits bacillaires tous les jours pendant vingt jours, dès le deuxième jour après la vingtième injection, le sérum est très riche en anticorps.

Le cobaye non tuberculisé est très peu riche en anticorps si on l'injecte avec de la tuberculine ou des extraits bacillaires (Laub), mais il en présente beaucoup si on lui injecte des bacilles tués à 70°-100° (Bordet-Gengou) ou des bacilles digérés par la trypsine (Loëffler).

Calmette et Massol ont montré que l'on produit des sérums

riches en anticorps si on injecte à des animaux tuberculeux des bacilles virulents dans les veines ou des extraits sous la peau.

II. — L'« inhibitrice » de Calmette et Massol

Calmette et Massol ont montré (*Annales de l'Institut Pasteur*, avril 1914) que certains sérums possèdent la propriété d'empêcher la fixation de l'alexine et d'inhiber l'action d'autres sérums renfermant des anticorps.

Ils l'ont démontré en mettant en contact 20 centimètres cubes de sérum de bovidé hyperimmun avec 1 centimètre cube d'antigène B¹ pendant une heure à 37° et dix-huit heures à la glacière. Un précipité se forme ; on centrifuge la moitié du mélange, on décante, et avec le liquide on fait des réactions de fixation. Toutes les réactions faites avec le précipité, avec le liquide décanté, et le reste qui n'a pas été centrifugé, sont négatives. L'antigène B¹ a perdu sa fonction fixatrice, le sérum immun a exercé une fonction inhibitrice.

Des expériences ont montré que « tant que l'antigène B¹ et les anticorps libres du sérum de cheval n'ont pas fixé l'alexine, le sérum inhibant empêche la fixation, et quand celle-ci s'est effectuée le sérum inhibant ne peut plus remettre l'alexine en liberté » (Calmette).

Cette substance inhibitrice est habituelle dans les sérums immuns, et rare dans les sérums des tuberculeux ! Probablement, d'après Calmette, parce que chez les animaux immuns les bacilles inoculés provoquent un enrichissement du sang en globulines ; ces globulines contiennent l'inhibitrice et ont la propriété d'empêcher la fixation de l'alexine sur les antigènes sensibilisés.

Calmette pense que ces inhibitrices jouent un rôle dans la défense contre les infections massives, l'inhibitrice disparaît en effet du sérum des animaux auxquels on n'injecte plus les bacilles.

III. — Les anticorps dans les extraits d'organes et les exsudats tuberculeux

Liviérato a décelé les anticorps dans les ganglions tuberculeux.

De même Paraskevopoulos dans les exsudats des pleurésies aiguës (Soc. de Biol., 8 avril 1911), si on a éliminé par centrifugation les bacilles de ces exsudats.

Karwacki et Czeslas Otto ont décelé des anticorps en excès dans les crachats, même lorsqu'il y avait des bacilles.

Il est probable que les anticorps peuvent être fabriqués par les ganglions, la rate, la moelle osseuse, où sont les leucocytes, générateurs d'antitoxines (Metchnikoff).

IV. — Transmission héréditaire des anticorps tuberculeux

Parisot et Hanns (*Revue médicale de l'Est*, 15 avril 1920) ont recherché les anticorps dans le sang d'une femme atteinte de cavernes, opérée de césarienne, et de l'enfant extrait vivant. Les anticorps existaient dans les deux sérums.

Schenck (*Münch. med. Wochens.*, 1910) avait obtenu le même résultat sur des sérums de produits de cobayes femelles tuberculeuses.

M^{lle} Rosenkrantz (Soc. de Biol., 22 juillet 1911) a obtenu avec des sangs du cordon ombilical 31 % de réactions positives.

Ribadeau-Dumas, Cuel et Prieur, utilisant l'antigène de Besredka, dans 8 cas de tuberculose avancée chez la mère, ont trouvé 7 fois la réaction positive dans le sang du cordon ; et 3 fois cette réaction est restée positive chez l'enfant de un à trois mois, bien que la cuti-réaction fût négative.

Il y a donc transmission des anticorps de la mère à l'enfant, et même l'enfant peut les conserver plusieurs semaines.

V. — Valeur diagnostique et pronostique de la recherche des anticorps tuberculeux par la réaction de fixation.

Nous ne nous servirons que des recherches faites avec les antigènes éprouvés et spécifiques de Calmette, de Boquet et Nègre et de Besredka.

A) Antigène de Calmette et Massol (B³)

Calmette et Massol, sur 134 sérums de malades non traités par la tuberculine ont trouvé :

Période	Malades	Réactions positives	Réactions négatives	% des positives
I....	27	26	1	96,29
II....	46	43	3	93,4
III....	61	58	3	95

Raymond Letulle, employant cet antigène (B³ de Calmette), a étudié 104 sérums, 67 d'hommes tuberculeux, 19 de bovidés tuberculeux et 18 de bovidés sains.

Sur 67 hommes, 60 réactions sont positives aux différentes périodes, soit 89,5 %; les sérums des bovidés sains ne contenaient pas d'anticorps.

Armand-Delille, Rist et Vaucher ont obtenu 92 % de résultats positifs avec l'antigène B³.

Boez a trouvé positives 77 % à la première période, 82 % à la deuxième période, 63,6 % à la troisième, 32,4 % chez les pré-tuberculeux, 48,98 % chez 53 non tuberculeux apparents.

Il n'existe aucune relation entre la forme évolutive et la richesse du sérum, et il n'y a aucun parallélisme entre les anticorps et la cuti-réaction. 7 individus sains ont donné une réaction négative. Boez et Destot notent que la syphilis peut être une cause de fixation non spécifique (6 fois sur 14 syphilis). Ils concluent à la très grande valeur diagnostique de la réaction et qu'elle indique une lésion en évolution (1919). [Ces recherches

ont porté sur 141 tuberculeux et 60 sujets apparemment non tuberculeux.]

Bezanson, Cohendy et Moreau en 1914 ont publié les résultats suivants : Dans 11 cas de tuberculose avérée, 11 fois la réaction fut positive ; dans 4 autres cas, 3 fois elle fut positive ; dans 7 cas, il n'y eut pas concordance entre la clinique et la réaction ; 1 cas à poussée pneumonique eut un Calmette négatif, mais un Besredka faiblement positif : une pleurésie aiguë et une méningite tuberculeuse eurent un Calmette positif et un Besredka négatif ; 1 cas d'asthme eut un Calmette positif, Besredka négatif ; 1 cas de bronchite aiguë eut les deux positifs ; 1 cas de typhoïde eut un Besredka positif.

La présence simultanée dans le sérum de tuberculeux de la réaction de Wassermann, en dehors de signes cliniques de syphilis, a été signalée par Massol et Pfeiffert en 1912. De même on a fait la constatation inverse et cela avec tous les antigènes.

B) Antigène méthylique Petroff, Boquet et Nègre

Boquet et Nègre avec cet antigène sur 94 sérums suspects ont trouvé 44 réactions positives, et sur 60 sérums tuberculeux 57 réactions positives (95 %).

Lawrason, Brown et Petroff sur 478 cas ont trouvé 72 % de réactions positives. 90 % des réactions coïncidaient avec la bacilloscopie positive (Brown et Petroff).

Rogers pense que l'antigène méthylique est le meilleur (70 % de cas positifs).

Ichok, sur 31 cas non tuberculeux, a vu la réaction 31 fois négative ; chez 69 tuberculeux elle a été 51 fois positive.

Armand-Delille, Hillemand, Lestocquoy ont vu cette réaction 34 fois positive chez 35 cavitaires, 25 chez 26 ramollis, 26 fois chez des évolutifs sans bacilles, 4 fois négative dans 4 cas de tuberculoses locales.

C) Antigène de Besredka

Besredka, Manoukhine et Jupille constatèrent que la réaction est précoce chez les animaux inoculés, dès le quatrième jour chez les cobayes, et cette réaction devient négative près de la mort. Sur 750 sérums pris au hasard, ils la trouvèrent 9,2 % positive et 83 fois négative ; sur 85 individus à réaction positive, 67 étaient tuberculeux.

Dans 100 cas de tuberculose pulmonaire, 2 laryngées, 4 rénales, 1 mammaire, il y eut des réactions positives. Chez 44 cavitaires mourants elle fut négative.

Debains et Jupille en 1914 ont examiné 570 sérums et ont conclu que la réaction peut être négative dans les cas avancés avec cachexies, dans la méningite tuberculeuse, la granulie, les pleurésies.

Inman sur 52 tuberculeux a trouvé 50 réactions positives.

Rajehmann a obtenu 86 % de réactions positives chez les tuberculeux ; c'est à peu près la proportion trouvée par Bronfenbrenner.

Küss et Rubinstein étudièrent 100 malades et notèrent la spécificité de l'antigène (1914).

René Marie et Sorel se sont même servis de cette méthode pour trier les enfants tuberculeux.

Goldenberg et Fried sur 145 sérums tuberculeux ont eu 93,75 % de réactions positives par le procédé au sérum frais (1920).

Lisbonne et Pellier ont eut 95 % de réactions positives à la première et à la deuxième période, à la troisième 68 %, dans les tuberculoses osseuses 97 %.

Bass (1920) a trouvé sur 13 pleurétiques 9 réactions positives, 130 fois positive sur 130 malades évolutifs, 132 négatives chez 132 non tuberculeux.

Pissavy (1921) a établi une proportion de 89 % de réactions positives ; 3 cas de méningites ont donné 3 réactions négatives ; la réaction est négative près de la mort.

Grümbach (1921) sur 85 cas a eu 94 % de réactions positives ; 2 cas de méningite agonique ont donné une réaction négative.

Rist et Ameuille ont étudié 162 sérums : ils font remarquer qu'il y a trop de réactions faiblement positives, qu'elle est négative chez les pleurétiques, et que sa valeur diagnostique ne doit pas être exagérée.

P. Mercklen, Lortat-Jacob et Lanzenberg l'ont vue positive 19 fois dans 19 cas avec bacilles, 9 fois dans 9 cas sans bacilles ; elle peut ainsi indiquer un foyer actif.

Piery, Merieux et Gliksman sur 27 cas ont trouvé : 1 sclérose discrète, réaction négative ; 5 cas en poussée, 3 fois positives, 1 fois négative ; 1 pleurésie, 1 positive ; 5 fibro-caséuses, 2 positives et 3 négatives ; 6 cas ultimes, 4 positives et 2 négatives.

Sergent et Prewost ont trouvé sur 28 cas non tuberculeux 19 réactions négatives, 9 positives (3 de ces 9 étaient syphilitiques et 6 non syphilitiques et non tuberculeux). Sur 28 cas évolutifs, il y eut 28 réactions positives ; sur 3 pleurésies, 2 négatives ; sur 5 anciens tuberculeux, 5 négatives ; sur 3 cas peu évolutifs, 3 positives.

Lanzenberg et Jacquot ont vu la réaction concordant avec la clinique dans 96 % des cas.

Bezanson et Bergeron ont étudié la réaction dans 143 cas. Ils ont trouvé dans 77 cas les mêmes résultats avec l'antigène Boquet et le Besredka. Pour eux, les réactions très faibles (fixation d'une dose d'alexine) ne sont pas spécifiques.

Chez 79 tuberculeux avérés, 72 % de réactions positives (56 + + + +, 14 +, 9 —).

Chez 35 non tuberculeux, 28 négatives, 7 positives.

Chez 5 syphilitiques, 4 fois le Besredka fut + +.

13 cas de pleurésie, 6 réactions positives.

10 cas de tuberculoses légères sans bacilles, 4 négatives, 3 + 1 + + +, et 2 + + + + +.

Pour ces auteurs la cuti-réaction a plus de valeur pronostique.

Chez les vieillards, Ichok a pu s'en servir pour déceler la tuberculose (88,3 % de résultats positifs chez les tuberculeux).

Dans le lupus, le même auteur l'a trouvée positive forte dans 66 %, positive partielle dans 17 %, négative dans 16 %.

Courcoux, chez 17 pleurétiques évolutifs, a trouvé 11 réactions positives, d'emblée (9 fois) ou par la suite positive (2 fois).

Dans 3 cas de péritonite 2 fois la réaction fut positive.

Dans 9 cas d'adénopathies, 7 fois elle fut positive.

Courcoux pense que dans les pleurésies la positivité fait penser à une lésion pulmonaire active; il signale la concordance de l'antigène Boquet et du Besredka.

Rieux et Bass sur 200 non tuberculeux n'ont trouvé que 29 fois la réaction positive, sans qu'on puisse l'expliquer. Dans 90 cas de tuberculose certaine, elle a été positive 87 fois (97,7 %), les 3 cas négatifs se rapportent à 2 cas terminaux et à 1 début.

Sevi, chez les enfants, a montré l'utilité de la réaction; peu de réactions ont encore été publiées.

Rieux et Bass ont trouvé dans les pleurésies 55,5 % de réactions positives. Dans 49 adénopathies, il a eu 40 % de réactions positives.

Rouslacroix a recherché la réaction dans les affections cliniquement tuberculeuses, mais sans preuve bactériologique, et il l'a trouvée 11 fois positive sur 17 cas, et 11 fois positive dans 25 cas suspects.

Maisonnnet et Bass ont eu 3 réactions positives dans 6 épидидymites; 10 positives dans 12 cas d'adénite; 5 positives dans 7 tuberculoses rénales.

Mozer et Fried ont pratiqué 1005 réactions chez des tuberculeux chirurgicaux; voici leurs résultats : 70,72 % de réactions positives dans 468 cas de tuberculose osseuse évolutive; 17,24 % dans 145 cas non évolutifs; 23,91 % dans 92 tuberculoses fistuleuses datant de cinq à six ans; 35,73 % dans 56 adénites; 27,77 % dans 22 cas douteux.

48 syphilitiques non tuberculeux ont 35,42 % de réactions positives; 422 rachitiques 9 % et 55 non tuberculeux 5,69 %. Dans 187 cas les résultats furent concordants avec de l'antigène de Boquet.

STATISTIQUE PERSONNELLE (Charles Massias et N. Djouknitch)

Nos recherches ont porté sur 200 sérums. Pratiquée sur 50 non tuberculeux, non syphilitiques, la réaction fut 50 fois négative (cas très divers : 2 emphysèmes, 3 cirrhoses, 5 cancers, 3 diabètes, 4 ulcères gastriques, 2 anémies, 1 typhoïde, 1 urticaire, 1 sténose mitrale, 1 streptococcie, 2 ictères, 2 sciatiques, 4 néphrites, 1 atrophie musculaire, 2 urémies, 1 syndrome cérébelleux, 1 néphrite aiguë, 1 goitre, 6 cardiaques, 4 autres affections diverses non tuberculeuses), soit 100 % de réactions négatives.

Sur 23 syphilitiques, à réaction de Wassermann positive forte (++++), 2 fois la réaction de Besredka fut positive faible (+), 2 fois positive forte (+++), 17 fois elle fut négative : soit une proportion de 16,3 % de réactions positives.

Dans 1 cas de tuberculose hépatique, elle fut positive atténuée (+÷).

Dans 1 cas de tuberculose rénale ancienne, fermée, réaction positive faible (++).

1 cas de pleuro-péritonite ancienne guérie, réaction négative.

7 cas de tuberculose ancienne des os (articulations), 3 réactions de Besredka positives; la réaction de Bordet-Wassermann étant positive 2 fois, mais atténuée.

8 adénopathies, 4 réactions positives (dans 1 cas la réaction de Wassermann était positive).

6 pleurésies, dont 2 très anciennes dans les antécédents : 3 réactions positives, soit 50 %.

2 typhobacillooses, 1 réaction positive forte, une atténuée.

4 tuberculoses méningées, 1 réaction positive atténuée, 3 réactions négatives.

23 tuberculoses pleuro-pulmonaires torpides, fibreuses, non évolutives depuis plus ou moins longtemps, sans bacilles dans les crachats : 18 réactions positives, 5 négatives, soit 67,4 % de réactions positives.

62 tuberculoses actives et évolutives pulmonaires, à diverses formes, avec bacilles dans les crachats : 57 réactions positives fortes ; 1 réaction positive très atténuée chez un cavitare ; 4 réactions négatives dans 1 cas de caverne, près de la mort, 1 cas de poussée granulique terminant un processus lent fibro-caséux et compliqué d'une pleurésie à très grand épanchement, chez un cavitare mourant, et dans 2 cas de poussées rapidement évolutives au cours d'une tuberculose fibro-caséuse chronique.

Liquides céphalo-rachidiens. — 13 liquides ont été examinés ; 5 liquides à réaction de Wassermann négative ont donné tous une réaction négative ; 3 liquides à réactions de Wassermann fortement positive ont donné 3 réactions négatives. Sur 5 liquides de méningite tuberculeuses une seule fois la réaction a été positive, atténuée (+).

De notre statistique il ressort que la tuberculose évolutive pulmonaire donne 91,2 % de résultats positifs, et que les formes fibreuses lentement évolutives donnent 72,5 %.

Que conclure de la comparaison de toutes ces statistiques ?

Spécificité de la réaction

Tout le monde s'accorde pour reconnaître la spécificité de la réaction. Elle décèle la présence d'anticorps tuberculeux. Il y a cependant quelques réserves à faire.

Les sérums d'individus syphilitiques et non tuberculeux peuvent avoir une réaction positive, comme l'indique la lecture des statistiques (16,3 % dans la nôtre ; 25 à 33 % pour d'autres auteurs).

Rieux sur 17 paludéens avec hématozoaires dans le sang a trouvé 7 réactions positives, sans que ces paludéens, ne parussent être syphilitiques.

Rouslacroix a trouvé dans 6 cas d'encéphalite épidémique, à la phase de séquelles, 6 réactions de Besredka positives ; il convient de faire remarquer qu'il s'agit là peut-être d'évolutions tuberculeuses chez des sujets souvent très diminués au point de vue physique et ayant séjourné longtemps dans les hôpitaux.

Les non tuberculeux ont une réaction négative (Boez et Duhot, Rieux 200-cas et nous-mêmes 50).

Tuberculose pulmonaire

Il nous paraît qu'on peut dire que les cas de tuberculose pulmonaire évolutive donnent 80 à 97 % de réactions positives et, d'après notre expérience, la réaction au sérum frais paraît plus sensible pour déceler les anticorps : peut-être sont-ils thermolabiles? Le fait est déjà connu pour la syphilis.

Goldenberg trouve 93,75 % de réactions positives, nous-mêmes nous trouvons 91,2 %.

Il est difficile encore de juger l'antigène de Boquet-Nègre supérieur à celui de Besredka ou inversement.

La lésion est-elle évolutive? Le pourcentage se rapproche de 100 %. L'est-elle moins, ou bien est-elle torpide, ou bien est-elle une manifestation relativement bénigne, locale, comme dans les cas de pleurésie séro-fibrineuse, adénopathie, tuberculose dite externe? Dans ces cas la proportion de réactions positives tend à décroître. La moitié des pleurésies au moment de l'épanchement ont une réaction négative, à moins, semble-t-il, qu'il n'y ait une évolution parenchymateuse. Les tuberculoses osseuses donnent tout au plus 75 % de réactions positives, et ce taux tombe à 31 % pour les vieilles affections fistuleuses, de cinq à six ans (Mozer et Fried).

La pleurésie, évolution pleurale, peut précéder la séro-réaction, qui souvent devient positive par la suite (Courcoux, statistique personnelle).

La réaction de fixation peut servir à la détermination étiologique, plus ou moins précise, de certains syndromes (rhumatisme, érythème noueux, asthme, etc.).

Positive, elle indique une évolution bacillaire et elle implique une lésion d'une certaine activité. Elle se rapproche de 100 % dans la tuberculose évolutive et pulmonaire, elle oscille entre 45 et 75 % dans les tuberculoses plus ou moins évolutives, pleurales, ganglionnaires, péritonéales.

Mais sa présence ne saurait dispenser le clinicien de s'adresser aux méthodes habituelles de diagnostic (stéthoscopie, examen radiologique, signes fonctionnels et généraux, recherche des bacilles).

Que conclure d'une réaction négative ?

L'interprétation en est souvent difficile. S'il s'agit d'un tuberculeux certain, elle ne change rien au diagnostic. S'il s'agit d'un malade qui a quelques signes récents de tuberculose, elle sera recherchée de nouveau ultérieurement. S'il s'agit d'un individu chez qui rien ne fait penser à une tuberculose elle permet de conclure que son affection n'est pas tuberculeuse.

La réaction de fixation peut-elle éclaircir le problème du début évolutif de la tuberculose ? Il faut remarquer d'abord la latence clinique de très nombreuses lésions tuberculeuses évolutives, ganglions caséux trachéo-bronchiques, nodules minimes tuberculeux pulmonaires. Le fait est indiscutable aujourd'hui, et cela explique la proportion de 52 % de réactions positives trouvées par Rieux chez les malades présumés tuberculeux, et les 8 % de réactions positives chez les malades n'ayant aucune tuberculose apparente.

Rieux a montré que le taux des réactions positives augmente de pair avec les signes de présomption de tuberculose (commémoratifs anciens, hémoptysies, etc.), et que si une hémoptysie toute récente s'accompagne de réaction négative c'est que l'infection est trop récente encore pour avoir amené la création d'anticorps.

Signification pronostique

La réaction a-t-elle une signification pronostique ?

Remarquons que sa présence est très variable chez les cavitaires ; des tuberculeux mourants peuvent la présenter (cas personnels, Sergent) ; le plus souvent une évolution aiguë, granulique, broncho-pneumonique, méningite (cas personnels) entraînent une réaction négative.

La réaction de fixation est-elle capable de dire si la lésion est évolutive ou non ?

Rist et ses élèves prétendent que toute tuberculose évolutive s'accompagne de bacilles dans les crachats. A cette opinion s'oppose celle de Mantoux, de Léon Bernard et de Sergent.

Il y a, en effet, des bacilloles franchement évolutives ou au moins actives, sans bacilles dans les crachats pendant très longtemps, ou bien avec des intervalles sans bacilles de plusieurs années.

Mais encore faudrait-il s'entendre sur le mot « évolutif » ? Et le problème de savoir si une lésion est encore en activité, même sournoise, ou bien si elle est éteinte, est presque impossible : Sergent dit qu'il n'y a pour le résoudre « aucun signe de certitude ». Peut-être pourrait-on dire actuellement qu'un malade dont la réaction se maintient négative, avec absence de bacilles de crachats et de signes généraux et locaux actifs, est guéri ou du moins cicatrisé. Mais une réaction positive indique une évolution quelque part sournoise. Il en est de même pour la syphilis, où la réaction de Wassermann positive indique un foyer actif de syphilis et commande le traitement spécifique jusqu'à obtention et maintien de la négativité.

Signification prophylactique

La réaction positive fera surveiller les individus qui ne crachent pas encore de bacilles et incitera à des examens répétés. On comprend son importance pour l'établissement d'un traitement précoce et aussi pour la prophylaxie sociale.

Lanzenberg, aux Dispensaires de Paris d'hygiène sociale, en a confirmé la valeur. Sur 30 individus sans signes locaux, 20 avaient une réaction positive; ils sont devenus tuberculeux confirmés. La réaction positive a pu servir à cet auteur pour donner 13 fois une signification à des signes locaux difficiles, tels que la rudesse, la faiblesse du murmure vésiculaire.

VI. Fonctions des anticorps dans la défense de l'organisme

Wassermann et Brück, Löwenstein avaient pensé que les

anticorps étaient une « antituberculine », qui neutraliserait la tuberculine produite au sein des lésions.

Calmette et Massol ont montré que les sérums les plus riches en anticorps ne neutralisaient pas la tuberculine, mais la précipitaient simplement.

Il n'y a aucune relation entre la richesse du sérum en anticorps et l'aptitude de l'individu à réagir à la tuberculine.

En effet, ceux qui réagissent le plus (lupiques, adénopathiques, etc.) sont ceux qui présentent le moins souvent la réaction de fixation positive.

Les anticorps apparaissent avant les réactions à la tuberculine chez les animaux (Slatinéanu, Besredka et Manoukhine).

Les injections répétées de tuberculine, de bacilles morts ou vivants augmentent les anticorps, mais la défense contre l'infection n'est pas meilleure. Les anticorps paraissent être les « témoins » des réactions de l'organisme contre les toxines tuberculeuses et les tuberculines; ils ne révèlent pas un état d'immunité ni de résistance.

A. Calmette, Nègre et Boquet (*C. R. Académie des Sciences*, p. 329, 21 novembre 1921) ont injecté de fortes doses d'un bacille bovin, rendu avirulent et non tuberculinogène, obtenue par 210 passages sur pomme de terre-bile de bœuf glycélinée à 5 pour 100; ils ont pu obtenir des sérums si riches en anticorps que 1 centimètre cube fixait 7.600 unités alexiques. Ce sérum n'a aucun pouvoir bactériolytique *in vivo* ni *in vitro*. De même les essais de traitement de cobayes tuberculeux par des injections répétées chaque jour de 1 cc. 5 de sérum, dose considérable, sont restés inefficaces. Ce sérum n'a aucun pouvoir neutralisant vis-à-vis de la tuberculine.

Il n'y a aucun espoir à avoir en l'avenir thérapeutique de ces anticorps.

L'immunité tuberculeuse est toujours fonction de l'hypersensibilité; elle a un caractère particulier tel que ni aucun anticorps, quel qu'il soit, ni aucun antigène, tuberculine, vaccin avirulent, extrait bacillaire, ne peut conférer une immunité antituberculeuse autre que celle que nous donne une infection légère de la première enfance.

Il est très difficile de juger l'évolution de la tuberculose, et retenons des expériences antérieures que sérums et vaccins n'ont jusqu'ici guéri que les formes spontanément curables de la tuberculose, tuberculoses chirurgicales, et que le grand secret de leur action est d'être contre-indiqués dans les formes évolutives, sévères, celles qui ne guérissent pas.

CONCLUSIONS

I. — Pour la recherche des anticorps dans les sérums des tuberculeux, au moyen de la réaction de fixation du complément de Bordet-Gengou, il faut se servir de produits titrés.

II. — La recherche sera faite par le procédé au sérum inactivé par la méthode aux doses croissantes d'alexine de Calmette et Massol.

III. — Le titrage de l'alexine est indispensable, et il conviendra d'employer comme première dose le double de la dose minima titrée en présence de 20 unités hémolytiques, dite dose « minima active » d'alexine, sous le volume de 0,1 d'une dilution ne dépassant pas le taux de 1/20 (en général 0,10).

Les doses croissantes d'alexine seront établies de 0,1 à 0,4 ou 0,5.

IV. — Le sérum hémolytique sera employé en excès à la dose de 10 à 20 unités hémolytiques.

V. — Les antigènes seront soit les extraits méthyliques bacillaires, soit l'antigène à l'œuf de Besredka.

VI. — La réaction de fixation peut aussi être faite, suivant notre technique, avec la méthode au sérum frais, avec trois doses croissantes d'antigène (0,1, 0,2, 0,3) ou plus simplement 0,2 et 0,3. Nous avons ainsi pratiqué 200 réactions.

VII. — La réaction de fixation peut être faite avec le liquide céphalo-rachidien (0,8 de liquide céphalo-rachidien) suivant notre technique.

VIII. — La réaction est spécifique, à part quelques fixations non spécifiques par le sang de certains syphilitiques.

IX. — Une réaction positive indique une lésion en évolution, en activité; quelquefois elle précède cette lésion évolutive, et permet d'en surveiller précocement l'apparition.

Elle permet de rattacher à leur étiologie tuberculeuse des syndromes à cause mal précisée.

Elle a une grande importance pour la prophylaxie individuelle et sociale.

La réaction positive est moins fréquente dans les tuberculoses externes, locales, que dans les tuberculoses pulmonaires.

Dans les premières, son taux varie de 35 à 75 %; dans les secondes, il se rapproche de 100 %.

X. — Une réaction négative peut se rencontrer chez des tuberculeux cicatrisés, chez des tuberculeux aigus, chez des mourants ou chez des tuberculeux tout à fait au début d'une évolution.

XI. — Les anticorps tuberculeux n'ont aucune action dans la défense de l'organisme contre la tuberculose; ils n'en sont que les « témoins ». Leur production n'a aucun rapport avec l'aptitude des individus à réagir à la tuberculine (cuti et ophtalmo-réaction).

Il n'y a pas lieu de penser que les sérums riches en anticorps pourront avoir une action thérapeutique.

Vu, bon à imprimer :

Le Président,

D^r HENRI VERGER.

Vu :

Le Doyen,

D^r C. SIGALAS.

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 3 février 1922.

Le Recteur de l'Académie,

R. THAMIN.

BIBLIOGRAPHIE

1. ARMAND-DELLILE. — Société de Biologie, LXVI, 4^{re} mai 1909.
2. ARMAND-DELLILE. — Société de Biologie, 9 juillet 1921, p. 307.
3. ARMAND-DELLILE, HILLEMAND, LESTOCQUOY. — Section d'Etudes scientifiques de l'œuvre de la tuberculose; in *Revue de la tuberculose*, n° 5, 1921, p. 389.
4. ARLOING et BIOT. — Société de Biologie, 20 décembre 1919.
5. ARLOING et BIOT. — *Revue de la tuberculose*, n° 5, 1921, p. 404.
6. BASS (Khassia). — Diagnostic de la tuberculose par la déviation du complément. Méthode de Marmorek. Thèse de Montpellier 1910.
7. BASS. (A.). — Séro-diagnostic de la tuberculose au moyen de l'antigène de Besredka, Soc. de Biol., 16 octobre 1920. p. 1261.
8. BAUER. — *Münchener med. Wochenschrift*, 12 janvier 1909, p. 71.
9. BERGERON (André). — Société de Biologie. 27 novembre 1909, p. 588.
10. BERGERON (André). — Société de Biologie, 4 février 1911.
11. BERGERON (A.) et LETULLE (Raymond). — La valeur de la réaction de fixation du complément dans le diagnostic de la tuberculose. Sec. d'Etudes scient. de l'œuvre de la tuberculose, 10 juillet 1920, in *Revue de la tuberculose*, p. 246, 1920.
12. BERTARELLI. — *Rivista di Igiene et di sani-pubblica*, 1917.
13. BESREDKA. — *Zeitschrift. für Immunität*, 1914, p. 27.
14. BESREDKA et MANOUKHINE. — Société de Biologie, 1914, p. 76.
15. BESREDKA et JUPILLE. — Société de Biologie, 1914, p. 197.
16. BESREDKA et MANOUKHINE. — De la réaction de fixation chez les tuberculeux. *Annales de l'Institut Pasteur*, juin 1914, p. 575.
17. BESREDKA et MANOUKHINE. — La réaction de fixation dans le diagnostic de la tuberculose. *Paris médical*, août 1914, p. 219.
18. BESREDKA et MANOUKHINE. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1913, p. 1009.
19. BESREDKA et MANOUKHINE. — *Comptes rendus Académie des Sciences*, tome 136, 1913, p. 1632.

20. BESREDKA et MANOUKHINE. — Culture des bacilles tuberculeux dans du jaune d'œuf. *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1921, p. 291.
21. BEZANÇON (F.) et de SERBONNES. — Etude sur les anticorps tuberculeux. *Journ. de physiol. et de pathol. générale*, 1909, p. 1068.
22. BEZANÇON, COHENDY et MOREAU. — *Revue de la tuberculose*, 1920, p. 42.
23. BEZANÇON et BERGERON (André). — *Revue de la tuberculose*, 1921, p. 393.
24. BOEZ et DUHOT. — Etude comparée des faits cliniques et de la réaction de fixation dans la tuberculose avec les antigènes de Calmette et Massol. *Presse médicale*, 25 septembre 1919.
25. BORDET (J.) et GENGOU (O.). — Sur l'existence de substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens. *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1901.
26. BORDET (J.) et GENGOU. — *Comptes rendus Académie des Sciences*, CXXXVII, p. 331, 3 août 1903.
27. BORDET (J.) et GENGOU (O.). — *Traité de l'immunité*, 1921, Masson.
28. BORREL (A.) et BOEZ. — Antigène tuberculeux spécifique. Réunion biologique de Strasbourg. *C. R. Soc. de Biol.*, 17 juillet 1920.
29. BRETON et DUHOT. — *Bulletin Institut Pasteur*, 1919, n° 23.
30. BROCC (L.) et DUHOT (E.). — La réaction de fixation avec les antigènes de Calmette et Massol et le pronostic de la tuberculose. *C. R. Société de Biologie*, 24 mai 1912, p. 539.
31. BRONFENBRENNER. — *Arch. of int. medicin* (Chicago), 1914, p. 189.
32. BROWN et PETROFF. — The clinical value of complement fixation in pulmonary tuberculosis. *Amer. medic. of the Trudeau Sanatorium*, 1918, p. 525.
33. CALMETTE (A.). — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. Masson, éditeurs, 1921.
34. CALMETTE (A.) et MASSOL. — *Société de Biologie*, 13 novembre 1909.
35. CALMETTE (A.) et MASSOL. — *Société de Biologie*, 13 janvier 1910.
36. CALMETTE (A.) et MASSOL. — *Société de Biologie*, 3 février 1910.
37. CALMETTE (A.) et MASSOL. — Sur la fonction antigène des tuberculines. *C. R. Académie des Sciences*, 14 août 1911.
38. CALMETTE (A.) et MASSOL. — *Société de Biologie* LXXI, p. 341, 28 octobre 1911.
39. CALMETTE (A.) et MASSOL. — *Société de Biologie*, LXXI, p. 15, 6 janvier 1912.
40. CALMETTE (A.) et MASSOL. — Les anticorps tuberculeux. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1916, 30 janvier, 15 et 29 février.

41. CALMETTE (A.), NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — Sur les sensibilisatrices tuberculeuses. *C. R. Académie des Sciences*, CLXXIII, p. 529, 21 novembre 1921.
42. CAMUS (J.) et PAGNIEZ. — Au sujet d'une sensibilisatrice dans le sérum des tuberculeux. *Soc. de Biologie*, 6 juillet 1901.
43. COHN. — Uber Komplementlindende Tuberculose antikörper. *Berliner klin. Wochenschrift*, 13 juillet 1908.
44. COURCOUX. — La réaction de fixation dans certaines manifestations locales de la tuberculose. *Revue de la tuberculose*, n° 5, 1921.
45. COURMONT (P.). — Société de Biologie, 4 juillet 1921.
46. CITRON (Julius). — *Berlin. klin. Wochenschrift.*, 1907, p. 1135, 1141.
47. DEBRÉ (R.) et PARAF (J.). — Société de Biologie, 8, 16, 23 juillet, 23 octobre 1911.
48. DEBRÉ (R.) et PARAF (J.). — *Revue de médecine*, 10 janvier 1914.
49. DEILMANN. — *Zeitschrift f. Immunität*, 9 août 1911, p. 421.
50. DEMBINSKI. — *Comptes rendus de la Société de Biologie*. LVII, 3 décembre 1904, p. 502-504.
51. FRIED (B.) et MOZER. — Réaction de fixation à l'antigène de Besredka dans la tuberculose externe. *Annales de l'Institut Pasteur*, juin 1921, p. 388.
52. FRIED (B.) et MOZER. — *Presse médicale*, 1^{er} juin 1921.
53. FRIED (B.) et MOZER. — Société de Biologie, 23 octobre 1920.
54. GOLDENBERG et FRIED. — Société de Biologie, 6 novembre 1920, p. 1370.
55. GOLDENBERG. — Propriétés antigènes des bacilles tuberculeux. *Soc. de Biol.*, 28 mai 1921, p. 973.
56. GRUMBACH. — La réaction de fixation avec l'antigène de Besredka. *Schweizerische medizin. Wochens.*, 23 août 1921.
57. HAMMER. — *Munch. med. Woch.*, 1913, p. 1750.
58. HANNS. — Thèse de Nancy 1908-1909.
59. HASSOW et VON WEBEL. — The complement fixation test fort tuberculosis. *The Journal of immunology*, V, mars 1920.
60. HRUSKA (Ch.) et PFENNINGER (W.). — Le diagnostic de la tuberculose des bovidés avec l'antigène de Besredka. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1^{er} janvier 1921, p. 96.
61. ICHOK. — *Revue de la tuberculose*, 1921, p. 400.
62. ICHOK. — La recherche des anticorps chez les vieillards. *Progrès médical*, 22 janvier 1921, p. 33.
63. ICHOK. — Société de Biologie, 27 novembre 1920.

64. ICHOK, GOLDENBERG et FRIED. — Réaction de fixation dans le lupus. Soc. de Biol., 6 novembre 1920.
65. INMAN. — Société de Biologie, 1914, p. 251.
66. KARWACKI et CZESLAS (Otto). — Société de Biologie, 25 novembre 1911.
67. KINGHOM et TWICKELL. — *Zeitsch. f. Tuberk.*, 1913.
68. KURT MEYER. — Ueber Verwandbarkeit der Komplementlindungs zur diagnose tuberculoser Exsudate. *Deutsch. mediz. Woch.*, 14 mai 1913, p. 168.
69. KÜSS, LEREDDE et RUBINSTEIN. — Société de Biologie, 14 février 1914.
70. LANZENBERG et JACQUOT. — *Revue de la tuberculose*, n° 5, 1921, p. 384.
71. LAUB et NOVOSNY (J.). — Ueber Komplementlindende substanzen bei Tuberculose. *Wiener klin. Woch.*, 5 août 1919.
72. LAWRAÏON BROWN, PETROFF et PESGNERA. — Etiological studis in tuberculosis. *Am. Review of tuberculosis*, décembre 1919.
73. LETULLE (Raymond). — Réactions humorales dans la tuberculose. Thèse de Paris 1911-1912.
74. LIVIÉRATO. — *Centralblatt f. Bacteriologie*, LVII, 21 janvier 1911.
75. LISLE PUNCH. — *The Lancet*, 3 décembre 1921.
76. LÜDKE. — *Münch. mediz. Woch.*, 1908.
77. MAISONNET et BASS. — Réaction à l'antigène de Besredka dans les tuberculos urinaires. *Revue de la tuberculose*, n° 3, 1921.
78. MARMOREK. — *Presse médicale*, 6 janvier 1909.
79. MARMOREK. — *Archives générales de médecine*, 24 novembre 1909.
80. MASSIAS (Charles). — La réaction de fixation par l'antigène de Besredka. *Journ. de méd. de Bordeaux*, 25 juillet 1921.
81. MASSIAS (Charles). — La réaction de fixation à l'antigène de Besredka par le procédé du sérum non chauffé. *C. R. Soc. de Biol.*, 5 juillet 1921, LXXXV, p. 336.
82. MASSOL et GRYZEZ. — *C. R. Soc. de Biol.*, 9 avril 1910, p. 388.
83. MASSOL et NOWACZINSEY. — *C. R. Soc. de Biol.*, 19 novembre 1910.
84. MERKLEN (P.), LORTAT-JACOB et LANZENBERG. — *Revue de la tuberculose*, n° 5, 1921, p. 390.
85. MORGENROTH et RABINOVITCH. — *Deutsch. mediz. Wochensch.*, 2 mai 1907, p. 705.
86. — MOURSUND. — Complementfixation in tuberculosis. *Journ. of infec. diseases*, p. 8, janvier 1920.
87. MOZER et FRIED. — *Revue de la tuberculose*, 1921, p. 380.

88. NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — Mode de préparation et pouvoir antigène des extraits alcooliques de bacilles tuberculeux. *Soc. de Biol.*, 19 juin 1920.
89. NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — Valeur antigène comparative des extraits alcooliques de bacilles tuberculeux et de microbes divers. *Soc. de Biol.*, 26 juin 1920, et *Revue de la tuberculose*, n° 4.
90. NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — Sur le pouvoir antigène des extraits méthyliques. *Soc. de Biol.*, 13 janvier 1921, p. 76.
91. NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — Recherches sur la valeur antigène des émulsions bacillaires et des extraits éthyliques et méthyliques de bacilles tuberculeux. *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1921 p. 303.
92. NÈGRE (L.) et BOQUET (A.). — Sur les recherches des anticorps tuberculeux par les extraits méthyliques de bacilles tuberculeux. *Revue de la tuberculose*, 1921, n° 5, p. 366.
93. NICOLLE et POZEWSKI. — *Annales de l'Institut Pasteur*, XXII, 1^{er} janvier 1908, p. 37.
94. PELLIER (M^{lle}). — Thèse de Montpellier 1920-1921.
95. PETROFF (S. A.). — Serological studies in tuberculosis. *American Review of tuberculosis*, mai 1917 et janvier 1920.
96. PIERY, MÉRÉIEUX, GLIKSMANN. — *Revue de la tuberculose*, n° 3, 1921.
97. PISSAVY, GRUMBACH et GIBERTON. — *Revue de la tuberculose*, n° 5, 1921, p. 403.
98. RANQUE et SENEZ. — Sur une technique de réaction de fixation du complément dans la tuberculose. *Soc. de Biol.*, 7 janvier 1922, p. 28.
99. RÉNON (L.). — La réaction de fixation dans la tuberculose. *La Médecine*, t. I, n° 8, mai 1920, p. 496.
100. RIBADEAU-DUMAS, CUEL, PRIEUR. — Transmission des anticorps de la mère à l'enfant. *Revue de la tuberculose*, 1921, p. 378.
101. RIEUX et BASS. — Réaction de fixation avec l'antigène de Besredka. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1921.
102. RIEUX et BASS. — *Revue de la tuberculose*, 1921.
103. RIEUX et ZÖLLER. — Réaction de fixation et tuberculose. *Presse médicale*, 5 novembre 1921.
104. RIST et AMEUILLE. — *Revue de la tuberculose*, 1921, p. 398.
105. ROGERS. — Complement fixation in tuberculosis and a comparison of the Wassermann et Hecht-Weinberg-Gradwohl systems. *Journ. of infect. diseases*, août 1920, II, 191.
106. ROSENBLATT (Ch. et Steph.). — *Münch. mediz. Woch.*, 29 septembre 1908.

107. ROUSLACROIX. — Réaction de fixation avec l'antigène Besredka. Soc. de Biol., 7 janvier 1922.
108. RUBINSTEIN. — Traité de sérologie. Maloine éditeur, 1921.
109. SELTER. — Die antigenewirkung der Friedmannbazillen. *Deutsch. mediz. Wochens.*, n° 24, 10 juin 1920.
110. SERGENT et PREWOST. — *Revue de la tuberculose*, n° 5, 1921, p. 408.
111. SIMON et HANNS. — Recherche des anticorps tuberculeux. Soc. de Biol., LXXI, 1909, p. 401.
112. SIVORI. — La reattivata organica nella tuberculosis. *Annali dell' Istituto Maragliano*, VIII, fasc. 4, p. 234, 1920.
113. SLATINÉANU et DANIELOPOLU. — Sérums antituberculeux et fixation du complément. Réunion biologique de Bucarest. Soc. de Biol., LXIV, p. 772, 16 avril 1909.
114. SLATINÉANU et DANIELOPOLU. — Présence du fixateur dans les exsudats pleuraux et péritonéaux d'origine tuberculeuse. Soc. de Biol., LXVI, p. 483, 11 février 1920.
115. STOLL et NEUMANN. — *Journal of Amer. medical Association*. Chicago, LXXII, 29 mai 1919.
116. URBAIN et FRIED. — De la spécificité de l'antigène de Besredka. *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1924, p. 294.
117. WADSWORTH et MALTAUER. — *Journal of Experimental medicine*, LXXXII, fasc. I, janvier 1921, p. 119-123.
118. WANG-CHUNG-YECH and CROCKEL. — Diagnosis of tuberculosis by the complement deviation. *British med. Journ.*, 3 juillet 1919.
119. WASSERMANN et BRÜCK. — *Deutsch. mediz. Wochens.*, 1906, p. 448-454.
120. WATKINS et C. R. BOYNTON. — *Journal of the Amer. med. Association*, LXXXV, 2 octobre 1920.
121. WEIL et NAKAYAMA. — *Münch. mediz. Wochens.*, 1906, n° 21.
122. WIDAL (F.) et LE SOURD (F.). — *Bull. Soc. méd. des hôp. de Paris*, 6 juillet 1901.
123. WOLF (M.) et MÜSHAM (Hans). — *Deutsch. mediz. Wochens.*, 27 août 1908, p. 1, 1504-1505.
124. YONG et GILVER. — A comparison of certain antigens used in complement fixation tests in pulmonary tuberculosis. *The American Review of Tuberculosis*, XXV, n° 8, p. 470, octobre 1919.

